

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 61-266942  
(43)Date of publication of application : 26.11.1986

(51)Int.CI.

G01N 21/64  
G01J 1/42  
G01J 1/58  
G01N 21/17

(21)Application number : 60-108740

(71)Applicant : HAMAMATSU PHOTONICS KK

(22)Date of filing : 21.05.1985

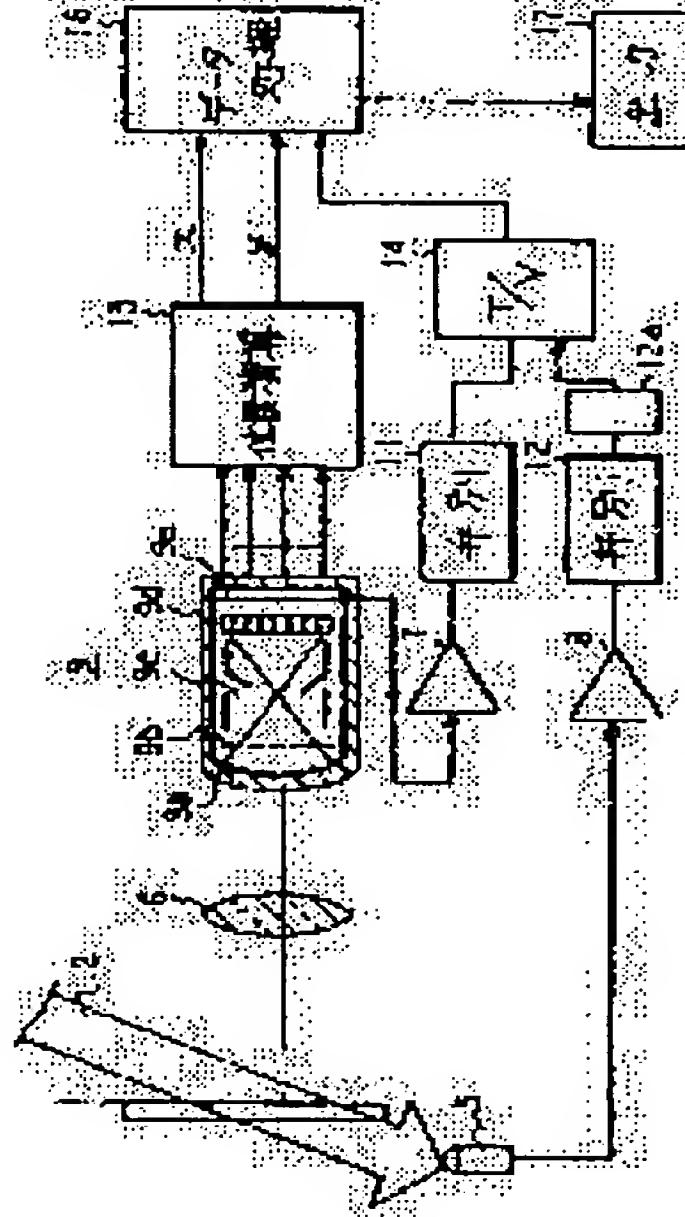
(72)Inventor : HIRAI NOBUYUKI  
WATANABE MITSUO

## (54) TWO-DIMENSIONAL MEASURING INSTRUMENT FOR EXTREMELY WEAK LIGHT EMISSION

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To measure a fluorescence attenuation time including two-dimensional position information by processing information on the incidence position of extremely weak light emission which is obtained by a two-dimensional incidence position detection tube and time information based upon reference time pulses synchronized with the excitation of fluorescence.

**CONSTITUTION:** A sample 1 is excited repeatedly with the exciting light of a picosecond range. A fluorescent image with light emission intensity of single-photon level which is formed by materials distributed in the sample 1 is made incident on the two-dimensional incidence position detection tube 9. The information on the incidence position of the incident fluorescence is outputted from the output terminal of a semiconductor incidence position detector 9e and information corresponding to the point of time of the incidence is outputted from the electrode of a microchannel plate 9d. The two-dimensional position signal and time signal are inputted to a data processing part 16 and recorded. The position information is sectioned into units of, for example,  $3 \times 3$  picture elements and the frequency of input of a single photon at each place is integrated with a quantized time unit to obtain data on a change with the lapse of time in the extremely weak fluorescence emission of the sample corresponding to said  $3 \times 3$ -picture-element unit.



### LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開  
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭61-266942

⑫ Int. Cl. 1  
 G 01 N 21/64 識別記号 厅内整理番号 ⑬ 公開 昭和61年(1986)11月26日  
 G 01 J 1/42 B-7458-2G  
 1/58 G-7145-2G  
 G 01 N 21/17 7145-2G  
 A-7458-2G 審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 2次元微弱発光測定装置

⑮ 特願 昭60-108740  
 ⑯ 出願 昭60(1985)5月21日

⑰ 発明者 平井 伸幸 浜松市市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内  
 ⑱ 発明者 渡辺 光男 浜松市市野町1126番地の1 浜松ホトニクス株式会社内  
 ⑲ 出願人 浜松ホトニクス株式会社 浜松市市野町1126番地の1  
 ⑳ 代理人 弁理士 井ノ口 寿

明細書

1. 発明の名称 2次元微弱発光測定装置

2. 特許請求の範囲

(1) 勵起されて微弱発光する試料の微弱画像の单一光子レベルの入射位置情報を出力する2次元入射位置検出管と、前記励起に同期した基準時間パルスを発生する基準時間パルス発生装置と、前記2次元入射位置検出管の出力を演算して入射位置の座標を出力する入射位置演算装置と、前記演算された座標に対応する入射位置検出管の出力発生時点と前記基準パルスの出力の時間差を比較して時間差に対応する時間差信号を発生する時間差信号発生装置と、多数回の励起ごとに、前記座標と時間差ごとの出力の発生を集積するデータ処理装置とから構成された2次元微弱発光測定装置。

(2) 前記基準時間パルス発生装置は前記試料を励起する励起光パルスを検出して基準時間パルスを発生する基準パルス発生装置である特許請求の範囲第1項記載の2次元微弱発光測定装置。

(3) 前記2次元入射位置検出管は、光電面の発生

する单一光子レベルに対応する電子を加速集束して半導体入射位置検出装置またはレジスティブアノードに入射させ前記光電面への单一光子レベルの入射光の位置に対応する入射位置情報を出力する入射位置検出管である特許請求の範囲第1項記載の2次元微弱発光測定装置。

(4) 前記2次元入射位置検出管は、光電面の発生する单一光子レベルに対応する電子を加速集束してマイクロチャンネルプレートで増倍して半導体入射位置検出装置またはレジスティブアノードに入射させ前記光電面への单一光子レベルの入射光の位置に対応する入射位置情報を出力する入射位置検出管である特許請求の範囲第1項記載の2次元微弱発光測定装置。

(5) 前記入射位置演算装置は、前記半導体入射位置検出回路またはレジスティブアノードの出力から、入射位置座標を演算して出力する特許請求の範囲第1項記載の2次元微弱発光測定装置。

(6) 前記時間差信号発生装置は時間差に対応する電圧を発生する装置である特許請求の範囲第1項

記載の2次元微弱発光測定装置。

### 3. 発明の詳細な説明

#### (産業上の利用分野)

本発明は、拡がりを持つ試料の微弱な発光をその発光の位置の情報とともに測定することができる2次元微弱発光測定装置に関する。

#### (従来の技術)

単一光子レベルのサブナノ秒領域での発光現象を測定する装置として光電子増倍管を用いた单一光子計数法による測定装置が知られている。

第3図は従来の单一光子レベルの計数法による発光現象を測定する装置の略図である。

試料1は植物の光合成色素である。

試料1はパルス幅100 p sec程度レーザのレーザパルス列の励起光2により、繰返して励起される。その励起光2の一部はホトダイオード3で受光され電気信号に変換される。

前記ホトダイオード3で変換された電気信号は、増幅器8により増幅される。そして、コンスタンントフラクション弁別器12で波形整形され基準信

号パルスを発生する。

この基準信号パルスのジッタは10 p sec程度である。

同時に励起光2による励起された試料1の単一光子レベルの螢光発光は、光学系6により光電子増倍管30に入射させられる。

光電子増倍管30により検出され、増幅器7で増幅されコンスタンントフラクション弁別器11によりジッタ200 p sec程度のパルスを発生する。

このパルスと遅延回路12aにより基準信号パルスとの時間差が時間電圧変換器のフルスケール以下になるように遅延された前記基準パルスは、時間電圧変換器14に入力され、パルス間の時間差に対応する電圧が出力される。

パルスハイトアナライザ31は時間差に対応する電圧を量子化して、その量子化された位置ごとに出力を複数回蓄積し、時間間隔を横軸、多数回の励起で得られた度数分布を縦軸にとりグラフ化すると、励起光2による試料1の発光時間特性が200 p sec程度の時間分解能で測定される。

#### (発明が解決しようとする問題点)

現実に存在する試料の微弱発光は、試料の部分により、異なると考えられる。

前記測定装置を用いて面的な拡がりを持つ試料の各部の微弱発光を測定しようとするとき、場所ごとに、前記測定を繰り返す必要がある。

この場合、試料自体が変化しないということが前提となる。

本発明の目的は2次元対象物の微弱な発光を、例えば200 p sec以下の時間分解能で位置情報と同時に測定を行うことができる2次元微弱発光測定装置を提供することにある。

#### (問題を解決するための手段)

前記目的を達成するために本発明による2次元微弱発光測定装置は、励起されて微弱発光する試料の微弱画像の单一光子レベルの入射位置情報を出力する2次元入射位置検出管と、前記励起に同期した基準時間パルスを発生する基準時間パルス発生装置と、前記2次元入射位置検出管の出力を演算して入射位置の座標を出力する入射位置演算

装置と、前記演算された座標に対応する入射位置検出管の出力発生時点と前記基準パルスの出力の時間差を比較して時間差に対応する時間差信号を発生する時間差信号発生装置と、多数回の励起ごとに、前記座標と時間差ごとの出力の発生を集積するデータ処理装置とから構成されている。

#### (実施例)

以下、図面等を参照して本発明をさらに詳しく説明する。

第1図は本発明による、2次元微弱発光測定装置の実施例を示すブロック図である。

試料1はピコ秒領域の超短時間の励起光2により繰返し励起される。

その励起光は50 p secの立ち上がり速度をもつ高速フォトダイオード3によって受光され、増幅器8、コンスタントフラクション弁別器12により成形されて、ジッタ10 p sec以下の基準信号を発生する。

一方試料1中に分布する物質による单一光子レベルの発光強度の螢光像は、光学系6により2次元

入射位置検出管9に入射させられる。

2次元入射位置検出管9は光電面9a、加速用メッシュ電極9b、電子レンズ系9c、マイクロチャンネルプレート9d、半導体入射位置検出装置9eを備えている。

入射した螢光発光の単一光子レベルの発光強度の螢光の入射位置の情報を半導体入射位置検出装置9eの出力端子から、入射時点に対応する情報をマイクロチャンネルプレート9dの電極から出力する。

入射時点に対応する情報は、増幅器7により増幅され、コンスタントフラクション弁別器11により波形成形されて出力される。

コンスタントフラクション弁別器11の出力と前記入射時点に対応する情報を含むコンスタントフラクション弁別器12の出力は前記基準パルスとの時間差が時間電圧変換器14のフルスケール以下となるように遅延回路12aにより適当な時間遅れを与えられて、時間電圧変換器14に入力され、ここでパルス間の時間差に対応する電圧が出

力される。

前記入射位置検出管9の半導体入射位置検出装置9eの出力は位置演算装置13に入力され、入射位置(x, y)が演算されて出力される。

二次元位置信号と時間信号はデータ処理部16に入力され、記録される。

データ処理部16は以上の単一光子検出データを多数回積算する。

前記位置情報を例えば $3 \times 3$ 画素単位に区切り、各場所における単一光子の入力回数を量子化された時間単位で積算すると、前記各 $3 \times 3$ 画素単位に相当する試料の微弱螢光発光の経時的変化のデータが得られる。

第2図はデータ処理部16により処理された前記データの例を示したグラフである。

図は2次元画像の画素(x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>)を中心とする9つの画素と、同じく(x<sub>j</sub>, y<sub>j</sub>)を中心とする9つの画素の螢光発光の経時的変化を示している。

(x<sub>i</sub>, y<sub>i</sub>)を中心とする9つの画素において

は、多数回の測定で、基準パルス発生時点から量子化されたt<sub>n</sub>の時点に5回の入射があり、t<sub>(n+2)</sub>の時点に3回の入射があり、t<sub>(n+2)</sub>を越える時点には入射がないことを示している。(x<sub>j</sub>, y<sub>j</sub>)を中心とする9つの画素においては、多数回の測定で、基準パルス発生時点から量子化されたt<sub>n</sub>の時点に3回の入射があり、t<sub>(n+2)</sub>の時点に2回の入射があり、t<sub>(n+7)</sub>を越える時点には入射がないことを示している。

螢光物質は物質により異なる螢光減衰時間を持つと考えられる。

試料1の表面上には様々な螢光物質が偏在している場合、特にある一定時間例えばサブナノ領域にのみ螢光発光をする物質の位置を知りたきときは、画面の全てのデータのうちから、サブナノ領域にのみ出力のあったものを表示装置17に表示することにより、その物質の分布を知ることができる。2次元入射位置検出管9は電子レンズにより有効画面上の中心に対して半径方向に対応した時間遅れを光子の検出時発生する場合があるが、これは

測定位置と中心との距離をパラメータとしてデータ処理部16により校正することができる。

#### (発明の効果)

以上詳しく述べたように、本発明による2次元微弱螢光測定装置は、螢光の励起に同期した基準時間パルスを発生し、2次元入射位置検出管により、微弱螢光の入射位置情報を、前記基準時間パルスからの時間情報を出力して処理することにより、2次元位置情報を含む螢光減衰時間の測定が可能となった。

螢光物質が2次元的に混在するときに、前記測定により得られたデータから、例えばサブナノ領域にのみの螢光発光をする物質の位置を知ることが可能となった。

また、得られた螢光減衰時間により、物質がなんであるかが特定可能となる。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明による2次元微弱螢光測定装置の実施例を示すブロック図である。

第2図は前記実施例の動作原理を説明するための

略図である。

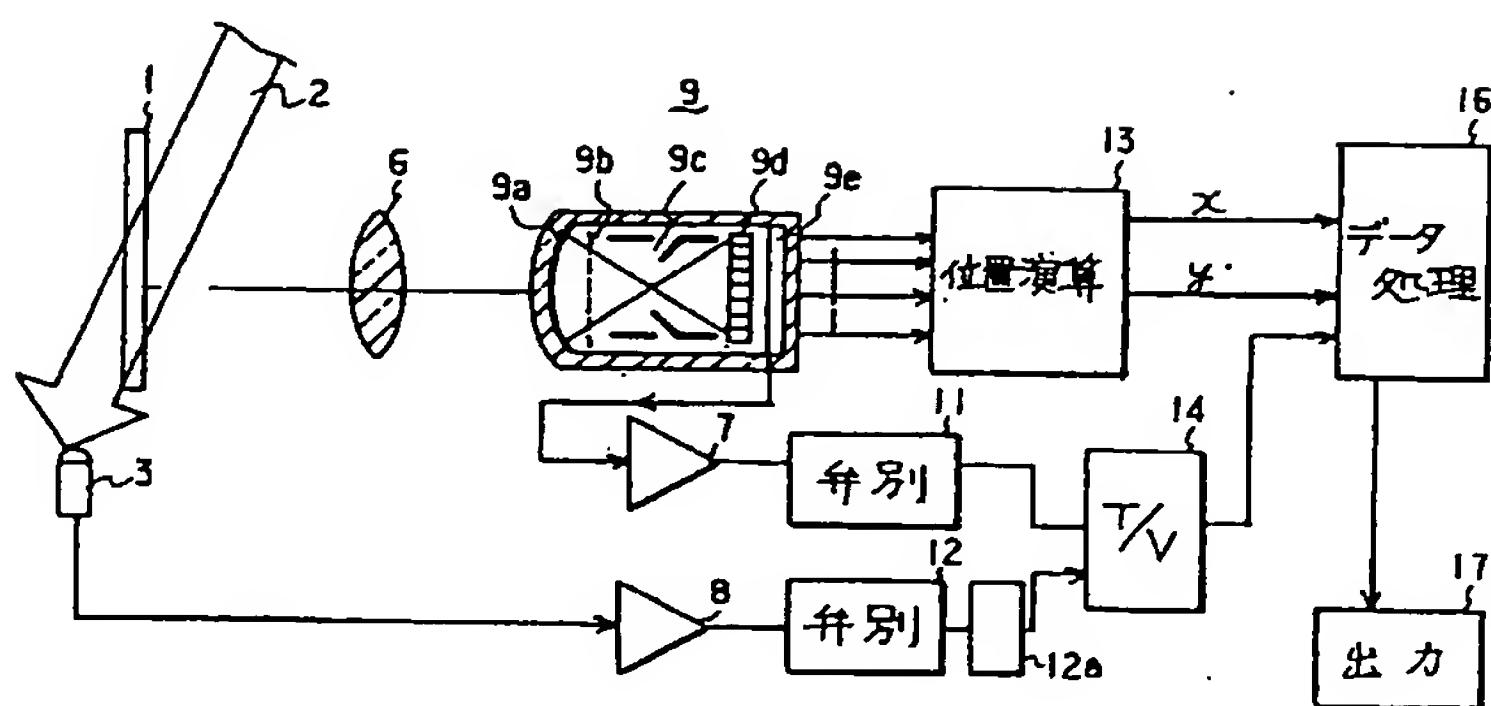
第3図は従来行われている光電子増倍管を用いた  
単一光子計数法の装置の構成を示すブロック図で  
ある。

3 1 … パルスハイトアナライザ

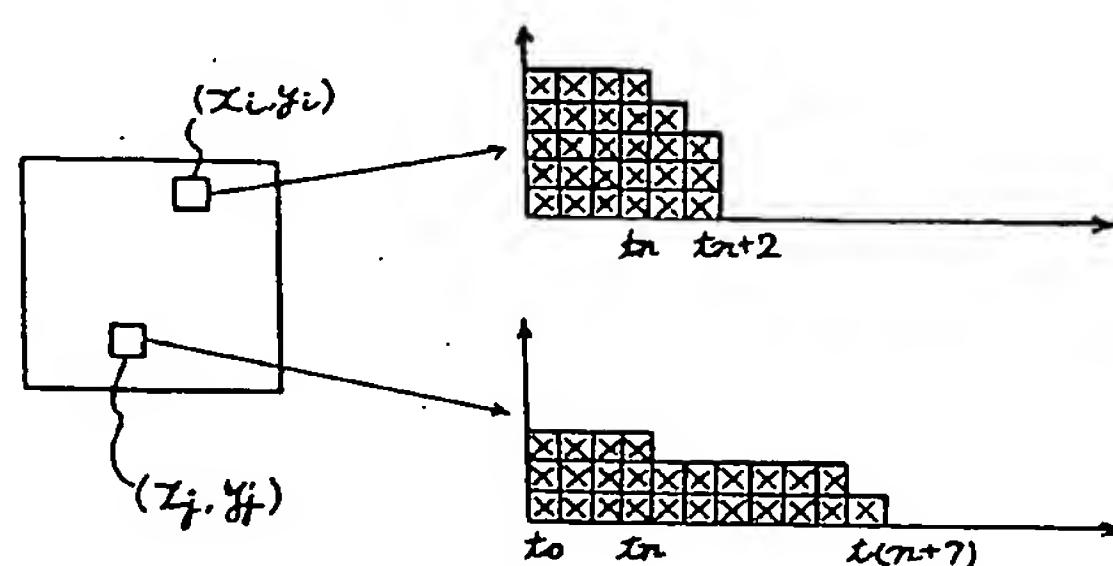
特許出願人 浜松ホトニクス株式会社  
代理人 弁理士 井ノ口 義

1 … 試料  
2 … 励起光束  
3 … ホトダイオード  
4 … レンズ (光学系)  
7, 8 … 増幅器  
9 … 2次元入射位置検出管  
9 a … 光電面  
9 b … 加速用メッシュ電極  
9 c … 電子レンズ系  
9 d … マイクロチャンネルプレート  
9 e … 半導体入射位置検出装置  
11, 12 … コンスタントフラクション弁別器  
12 a … 遅延回路  
13 … 位置演算装置  
14 … 時間電圧変換器  
16 … データ処理装置  
17 … 出力装置

第1図



第2図



第3図

